

Y
Beretning om
Nordiske Jordbrugsforskeres Kongres
i Göteborg Juni 1923.

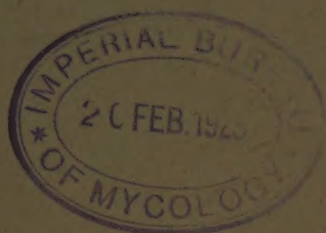
DD
Nordisk Jordbrugsforskning
5.—8. Hefte.

DD
Særtryk.

CAB INTERNATIONAL
MYCOLOGICAL INSTITUTE
LIBRARY

28 JAN 1992

FERDINANDSEN, C.



C. Ferdinandsen:

**Bacterium maculicolum Mc Culloch
paa europæisk Grund**

Bacterium maculicolum Mc Culloch paa europæisk Grund.

Af C. Ferdinandsen.

I Juli Maaned 1922 besøgte Dr. J. C. Walker, U. S. Department of Agriculture, sammen med Forfatteren en Række Hvidkaalsfrømarker paa Sjælland og Fyn, særlig med det Formaal at studere Brunbakteriosens og andre Sygdommes Udbredelse i disse Kulturer. Vor Opmærksomhed blev herunder henledet paa, at Hvidkaalsbladene undertiden (Vestsjælland, Østfyn) bar iøjnefaldende, tætstillede, ofte kantede, graaviolette til brunsorte Pletter — et Fænomen, som jeg vel tidligere havde iagttaget, men hvis Aarsag jeg ikke nærmere havde efterforsket. Dr. Walker fremsatte en Formodning om, at disse Pletter kunde skyldes en af *Lucia Mc Culloch* beskreven, nordamerikansk Bakterieart, *Bacterium maculicolum*¹⁾ — og han traf hermed det rette.

Efter min Hjemkomst til Lyngby undersøgte jeg, først i August, de i Forsøgsmarken voksende Kaalvarieteter, og fandt Angrebet udbredt paa følgende: Blomkaal (Erfurter Dværg, Frankfurter Kæmpe, Stor Dansk) stærkt angrebet; Hvidkaal (Amager, Brunsviger) svagere angrebet og kun paa de ældre Blade; Rosenkaal, Savoykaal, Spidskaal og Rødkaal svagt til meget svagt plettede; Grønkaal uangrebet.

Infektionen sker gennem Spalteaabninger eller Hydatoder og viser sig først paa Bladets Underside som stænkformede, olivengrønne Pletter af vanddrukkent Væv; meget snart opstaar der i disse Pletter et indsænket, jordfarvet (graabrunt med violet Skær) Midtparti, omgivet af

¹⁾ *Lucia Mc Culloch*: A Spot Disease of Cauliflower. U. S. Dept. of Agr., Bureau of Plant Industry, Bull. 225. Washington 1911. Se ogsaa: *Erwin F. Smith* Bacterial Diseases of Plants, Pg. 300—313. Philadelphia and London 1920. — Efter den af *Society of American Bacteriologists* netop foreslaaede Nomenklatur (*Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, Pg. 189. Baltimore 1923) skal Arten benævnes *Phytophthora maculicola*. Paa Dansk kan Sygdommen passende kaldes Kaalens Pletbakteriose.

en olivengrøn, vanddrukken Randzone, der i gennemfaldende Lys viser sig skinnende gul. Ofte følger Infektionen paa en kortere eller længere Strækning Bladets Nerver, som derved brunfarves og misdannes. Pletterne er synlige paa begge Bladsider og kan optræde meget talrigt (Tavle I—II)¹⁾; Primærpletterne er oftest kantede og varierer i Udstrækning fra 1—4 mm. Med Alderen ændrer Pletterne Udseende paa forskellig Vis: nogle holder sig smaa, bliver sortbrune eller næsten sorte, sklerotieagtigt haarde og let fremtrædende, til det sidste dog i Reglen omgivne af en gul Zone i gennemfaldende Lys — et godt diagnostisk Kendemærke; andre, større Pletter bleges snart i Midten, der bliver hvidligt brun eller smudsig-bleg, og gennemskinnelig; i gennemfaldende Lys viser disse ældre Pletter sig vinduesagtigt lyse, omgivne af en mørk Linie, og dernæst af en skinnende gul (Tavle II). Undertiden opnaar disse Pletter, ved Fusion af flere Primærpletter, en betydelig Størrelse, i Lyngby-Materialet indtil 4 cm \times 1 cm; de er tilbøjelige til at revne eller til helt at falde ud. De stærkt plettede Blade tager aabenbart en Del Skade som Følge af Angrebet.

Allerede Karakteren af det patologiske Billede maatte med stor Sandsynlighed henføre Sygdommen til „*Mc Culloch's Cauliflower Spot*“ — og en bakteriologisk Undersøgelse af Patogenet afslørede da ogsaa dette som *Bacterium maculicolum* (*Phytomonas maculicola*). I nedenstaaende sammenlignende Oversigt staar i Kolumnen til venstre opført en Række af *Mc Culloch's Data*, der refererer sig til den amerikanske Bakterie, isoleret fra Blomkaal; i Kolumnen til højre findes de tilsvarende Data for Lyngbybakterien, ligeledes isoleret fra Blomkaal (2. 8. 22)²⁾.

Bacterium maculicolum.

U. S. A.

Morfologi (Kødpepton-Agar).

Kort stavformet, 0.8—0.9 μ bred, livligt bevægelig ved Hjælp af 1—5 polære Flageller. Gram \div · Sporer \div .

Farvning og Syrefasthed.

Farves hurtigt bl. a. med Karbofuchsin og Methylenblaat. Ikke syrefast.

Lyngby.

Morfologi (Kødpepton-Agar).

Kort stavformet, ca. 1 μ bred, livligt bevægelig ved Hjælp af 1—4 polære Flageller. Gram \div · Spo er \div .

Farvning og Syrefasthed.

Farves let med Karbofuchsin og Methylenblaat. Ikke syrefast.

¹⁾ Tavlerne I—III findes ved Side 480.

²⁾ Jeg skylder min tidligere Medarbejder ved Landbohøjskolen, nuværende Afdelingsbestyrer, Magister Erik J. Petersen megen Tak for den Velvilje, hvormed han har bistaaet mig i mit Arbejde, saa vel ved Diagnosticeringen af Lyngby-Bakterien som ved Isolationer m. v. i Anledning af Infektionsforsøgene.

U. S. A.

*Kødpepton-Agar*¹.

Pladekulturer. Efter 3—4 Dages Forløb, ved 23°, er *Overflade-Kolonierne* 1—3 mm diam., hvide, opaliserende i gennemfaldende Lys, runde, flade, glatte, skinnende, helrandede. Struktur grovt kornet. *Dybdekolonierne* er smaa, linseformede. Med Alderen bliver Kolonierne smudsigt hvide, let uregelmæssige, med bølget Rand, og med utydelige radiære Randlinier. Den grovkornede Struktur bliver finkornet.

Stregkulturer. I Løbet af 2 Dage, ved 19—21°, er Stregen 3—5 mm bred, let grønlig.

Kødpepton (Bouillon).

Udvikling paa 6—24 Timer ved 25°. Skør Overfladehinde. Efter 2 Dages Forløb dannes et hvidt, fnugget Bundfald. Mediet farves let grønligt.

Kødpepton-Gelatine (+ 10).

Pladekulturer. Kolonier omtrent som paa Kødpepton-Agar; større Kolonier med frynset Rand. Ved tæt Udsaa-ning smeltes Substratet fuldstændig i Løbet af 2 Dage, ved 15—16°. Stikkulturer. Smeltning i Løbet af 8—10 Dage ved 17—18°. Smeltningen begynder kraterformet fra Overfladen.

Druesukker-og Mælkesukker-Bouillon.

Ingen Udvikling af Luft eller Syre.

Salpeter-Bouillon.

Ingen Nitratreduktion.

Ill.

Aërob.

Lyngby.

*Kødpepton-Agar*².

Pladekulturer. Efter 4 Dages Forløb, ved 25°, er *Overflade-Kolonierne* 2—3 mm diam., hvidlige, let opaliserende, runde, flade, glatte, skinnende, helrandede. Struktur grovkornet. *Dybdekolonierne* er smaa, linseformede. Med Alderen bliver Kolonierne lidt uregelmæssige i Formen, med svagt bølget Rand og med utydelige radiære Randlinier. Den grovkornede Struktur bliver mere finkornet.

Stregkulturer. God Udvikling efter 24 Timer, ved 25°. Farve: Bleg, smudsigt grønliggul.

Kødpepton (Bouillon). $p_H: 7.0$.

Hurtig Vækst ved 25°, bedst paa Overfladen, hvor der dannes en skør, hvid Hinde, der let falder til Bunds. Senere dannes et ret fyldigt Bundfald. Mediet svagt gullig-grønt.

*Kødpepton-Gelatine*³).

Pladekulturer. Kolonier omtrent som paa Kødpepton-Agar, maaske lidt mere uregelmæssige. Ved tæt Udsaa-ning smeltes Substratet fuldstændig i Løbet af et Par Dage, ved Stuetemp. Stikkulturer. Relativ god Vækst ved Stuetemperatur. Efter et Par Dages Forløb iagttages en kraterformet Gelatine-Smeltning fra Overfladen.

Druesukker-og Mælkesukker-Bouillon.

Ingen Udvikling af Luft eller Syre.

Salpeter-Bouillon (1 pCt. KNO_3).

Ingen Nitratreduktion.

Ill.

Aërob.

¹) + 15 peptoniseret Kødekstrakt (Bouillon) med 1 pCt. Agar.

²) Liebig's Kødekstrakt 5 g, Pepton Witte 10 g, NaCl 5 g, Ledningsvand 1000 cm³, Agar 15 g. $p_H: 7.0-7.2$.

³) S sammensætning som Kødpepton-Agar, men med 12 pCt. Gelatine i Steden for Agar.

U. S. A.

Lyngby.

Temperatur.

Optimum for Vækst 24—25°, Maximum 29°, Minimum under Frysepunktet.

Temperatur.

Ikke særlig prøvet. Som det fremgaar af ovenstaaende, synes de af *Mc Culloch* angivne Kardinalpunkter at stemme.

Om Modstandsdygtighed mod Udtørring og Virulens se nedenfor.

Som det fremgaar af ovenstaaende Sammenstilling, frembyder Lyngby-Bakterien, saa vidt Undersøgelsen af denne rækker, ganske de samme morfologiske og kulturelle Ejendommeligheder som *Mc Culloch's* Bakterie, og tør uden Skruper identificeres med denne. Med Hensyn til to biologiske Egenskaber, nemlig Modstandsdygtighed mod Udtørring og Bibeholdelse af Virulens, giver de i Lyngby foretagne Undersøgelser Lejlighed til at supplere *Mc Culloch's* Angivelser, hvorom nærmere nedenfor.

Modstandsdygtighed mod Udtørring.

Mc Culloch angiver, l. c. Pag. 13: „When young, well-clouded beef-bouillon cultures were dried on coverglasses and kept in a dark place at temperatures of 22° to 25°, 75 per cent were killed in 24 hours and 90 per cent in 48 hours. All were dead in five days“. Pg. 14: „This organism remains alive for six to eight months at temperatures varying from 18°—24° [paa forskellige Medier]. Evaporation was not prevented in these cultures, and the media became concentrated, often dry, and yet the organism was frequently alive“.

Disse Data, der altsaa viser, at den amerikanske Bakterie er meget følsom for direkte Udtørring, men dog i ret høj Grad taaler Indtørring af Kulturmedierne, har vi ikke haft Lejlighed til at verificere for Lyngby-Bakteriens Vedkommende; derimod viser følgende Forsøg, at denne Organisme er meget modstandsdygtig mod Udtørring, naar den opbevares i de smittede Kaalblade.

18. 5. 23: Et naturligt inficeret Blomkaalsblad, der har været opbevaret i Herbarium fra 2. 8. 22, altsaa i 9½ Maaned, afskylles i 96 pCt. Alkohol, derefter i 1 pm Sublimat, og tilsidst i sterilt Vand; med flamberet Skalpel og Naal udgnides lidt Bladsubstans fra en af de inficerede Pletter i et Par Draaber steril Bouillon, hvorefter der foretages Spredning paa Kødpepton-Agar i 4 Fortyndinger. Efter 3 Dages Forløb er de sædvanlige karakteristiske Kolonier dannede.

Bibeholdelse af Virulens.

I Henhold til de af *Mc Culloch* anstillede Forsøg, l. c. Pag. 8, mister Bakterien, som saa mange andre, sin Virulens ved gentagne

Ompodninger paa kunstig Næringsbund, smlgn. *Erwin Smith* l. c. Pag. 310: „The organism is rather long-lived on media but loses virulence readily“. — Som det nedenfor anførte Infektionsforsøg udviser, gaar Lyngby-Bakteriens Virulens ikke tabt ved tør Opbevaring i det naturlige Substrat gennem et Tidsrum af $9\frac{1}{2}$ Maaned; hvorledes Bakterien forholder sig i denne Henseende ved Passage gennem en Række Medier, har vi ikke fastslaaet.

Infektions- og Reisolationsforsøg.

1. Infektion af unge Kaalplanter i Laboratoriet.

8. 6. 23: Infektionsmateriale af Lyngby-Bakterien — isoleret fra et gennem $9\frac{1}{2}$ Maaned tørt opbevaret Blomkaalsblad, smlgn, ovenfor, og fremstillet ved Sammenblanding af en døgngammel Kultur paa Kødpepton-Agar, opslemmet i steril fysiologisk Kogsaltopløsning, med en 4—5 Dage gammel Bouillon-Kultur — udsprøjtes ved Hjælp af en Refraichisseur over en Række unge, 10—12 cm høje Kaalplanter i Urtepotter. Efter Besprøjtningen, som var meget kraftig, dækkes Planterne med Bærglas. Kontrolplanter henstilles i samme Værelse.

11. 6. 23:

- | | |
|----------------------|--|
| Rosenkaal | : Et Blad med flere, et Par Blade med færre, indsænkede, graaviolet-jordfarvede Pletter ¹⁾ , andre ved mørkt grønne stænkformede (stomatære) Infektioner. |
| Savoykaal | : Et Par Blade med faa, indsænkede, brunviolet-jordfarvede Pletter. |
| Spidskaal: | : Paa et Par Blade smaa mørkegrønne Stænk. |
| Brunsviger-Hvidkaal | : Et enkelt Blad tæt besat med smaa mørkegrønne Stænk. |
| Amager-Hvidkaal | : Usikker. |
| Rødkaal | : Usikker. |
| Grønkaal | : Fri. |
| Stor Dansk Blomkaal: | Et Par Blade med smaa mørkegrønne Pletter. |

13. 6. 23: Bærglassene fjernes fra Planterne.

14. 6. 23:

- | | |
|-----------|---|
| Rosenkaal | : De ved forrige Besigtigelse jordfarvet-plettede Blade delvis nedvisnede. Paa næsten alle Blade findes nu nedsænkede, fladt grubeformede |
|-----------|---|

¹⁾ De i Forsøgsprotokollen omtalte Pletter er, hvor intet andet angives, hypofylle.

Pletter, der i gennemfaldende Lys er mørkgrønne, i paafaldende Lys paa Oversiden bleggørne, paa Undersiden lysere eller mørkere grønne, \pm overgaaende i jordfarvet. — Efterhaanden antager disse Grubepletter, saavel paa denne som paa flere andre Værtplanter, oftest en fra Midten udgaaende, blegbrunlig Tone, og bliver hindeagtigt-gennemskinnelige. Større Vinduer kan opstaa ved Fusion af flere Primærpletter.

- Savoykaal : Alle Blade har nu indsænkede Pletter, hvis Farve ofte er tydeligt overgaaende i violet-graat.
- Spidskaal : Mange Blade med indsænkede Pletter.
- Brunsviger-Hvidkaal : Nogle Blade med indsænkede Pletter.
- Amager-Hvidkaal : Paa et Par Blade typiske, men ret svagt udviklede Pletter.
- Rødkaal : Flere Blade med Grubepletter paa Over- og Underside.
- Grønkaal : Et Par Blade med svagt udviklede Pletter.
- Stor Dansk Blomkaal: Flere Blade med typiske Pletter.

Alle Kontrolplanter uangrebne.

De stærkest angrebne Blade lider synligt en Del og er tilbøjelige til Nedvisning. I mange Tilfælde er Primærinfektionerne aabenbart meget tætliggende, som Følge af det rigeligt tilførte Smittemateriale og den under Infektionens Forløb herskende store Fugtighedsgrad.

16. 6. 23: Lyngby-Bakterien reisoleres fra Grubepletter paa Rosenkaal, og spredes paa Kødpepton-Agar i 4 Fortyndinger.

18. 6. 23: Typiske Kolonier af *Bacterium maculicolum* udviklede i Kulturerne.

2. Infektion af ældre Kaalplanter i det fri.

18. 7. 23: En Række Kaalvarieteter, nemlig Rosenkaal, Savoykaal, Brunsviger-Hvidkaal, Rødkaal, Grønkaal, Stor Dansk Blomkaal og Knudekaal, inficeres paa Forsøgsmarken i Lyngby. De til Forsøget anvendte Planter er alle store og kraftige, omend lidt mindre end Aarstidens normale; en Undtagelse danner dog Rosenkaal-Planterne, der er ganske unge, med kun 3—4 Løvblade. Som Smittemateriale anvendes en 2 Dage gammel Bouillon-Kultur, isoleret fra Bakteriepletter paa kraftigt voksende Stor Dansk Blomkaal; Bakterierne opslemmes i fysiologisk Kogsaltopløsning og udsprøjtes over Planterne ved Hjælp af en Refraichisseur. Efter Behandlingen dækkes Kaalplanterne i 48 Timer med Glasklokker (Afskygning med store Kaalblade), og lades herefter fri.

25. 7. 23:

- Rosenkaal : Et Par meget svage Pletter¹⁾ paa enkelt Blad.
 Brunsviger-Hvidkaal : Et Par Blade stærkt plettede (Tavle III).
 Andre Varieteter : Endnu ingen Udslag.

3. 8. 23:

- Rosenkaal : Et Blad med over 100, ganske smaa Pletter.
 De andre Blade med enkelte Pletter.
 Savoykaal : De to ældste Blade, hvert af Størrelse som 2
 Haandflader, med hver 30—40 ganske smaa
 Pletter, ikke over 1 mm i Gennemsnit.
 Brunsviger-Hvidkaal : De 4 ældste Blade plettede, dog ikke alle saa
 tæt som det fotograferede (Tavle III); Pletter
 1—2 mm i Gennemsnit. Paa et af Bladene en
 5 cm lang, stregformet Infektion langs Nerve.
 Rødkaal : Paa to Blade et Par svage Pletter.
 Grønkaal : Ingen Udslag.
 Stor Dansk Blomkaal : 2—3 svage Pletter, 1 mm i Gennemsnit, paa
 enkelt Blad.
 Knudekaal : Omkring 60 Pletter, 1 mm i Gennemsnit, paa et
 af Bladene.

Geografisk Udbredelse.

Bacterium maculicolum er første Gang (Februar 1909) paavist i Virginia, U. S. A., paa Blomkaalsblade; siden er den fundet, ligeledes paa Blade af Blomkaal, i følgende andre nordamerikanske Stater: New York, Florida og California. *Erwin Smith* angiver, l. c. Pg. 304, at Sygdommen sandsynligvis ogsaa forekommer i Australien, idet han allerede i 1900 fra Melbourne modtog plettede Blomkaalsblade, som han nu mener har været angrebne af Sygdommen. Med de danske Fund har Sygdommen holdt sit Indtog i Europa — eller maaske rettere: er Sygdommen nu paavist i den Verdensdel, hvor den hører hjemme. Da nemlig en Række Kaalvarieteter kan inficeres med den samme Renkultur af Patogenet, ligger det nær at antage, at Kaalens vilde Stamart, *Brassica oleracea*, er den oprindelige Vært for *Bacterium maculicolum*, og at Sygdommen siden er gaaet over paa og har bredt sig med de dyrkede Kaalformer.

¹⁾ Ved Pletter forstaas her og i det følgende typiske Pletter, med brunviolet Midte og olivengrøn, vanddrukken Rand, der i gennemfaldende Lys er skinnende gul.

Sammendrag af Resultaterne.

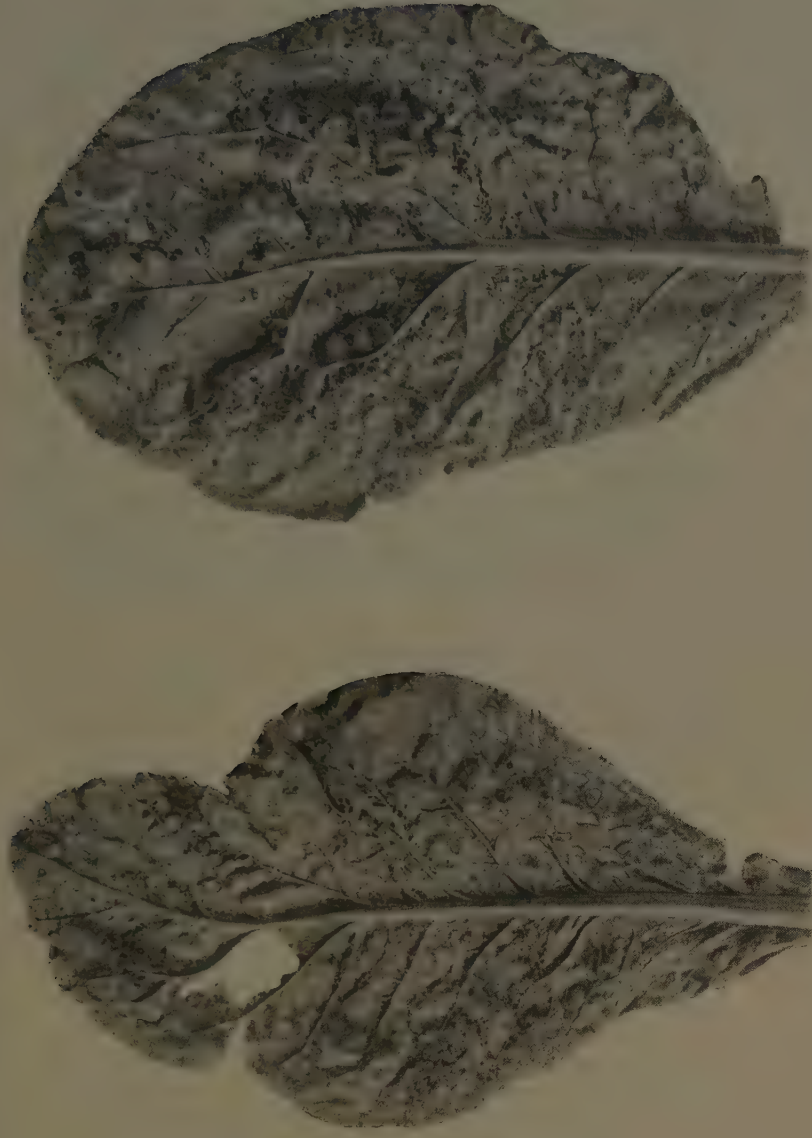
En Bakterieart, der maa anses for identisk med *Bacterium maculicolum* Mc Culloch, har paa nogle Steder i Danmark fremkaldt spontane, iøjnefaldende Angreb paa Blomkaal (Erfurter Dværg, Frankfurter Kæmpe, Stor Dansk) og Hvidkaal (Brunsviger, Amager); svage til meget svage Angreb er endvidere iagttaget paa Rosenkaal, Savoykaal, Spidskaal og Rødkaal. Sygdommen, der viser sig i Juli—Aug. Maaned, optræder saavel i 1. Aars Marken som i Frømarken; den er iagttaget baade i 1922 og 1923. Da der forekommer talrige Smaapletter paa de angrebne Blade, kan Sygdommen betegnes som Kaalens Pletbakteriose (Tavle I—III).

Patogenet, der har kunnet isoleres fra Blomkaalsblade efter tør Opbevaring af disse i 9½ Maaned, udviser i mikroskopisk Henseende og i samtlige afprøvede fysiologiske Egenskaber god Overensstemmelse med *Bacterium maculicolum*. Den fra de tørrede Blomkaalsblade isolerede Renkultur har vist sig i Stand til i Laboratoriet at inficere unge Planter af Rosenkaal, Savoykaal, Spidskaal, Hvidkaal, Rødkaal, Blomkaal og Grønkaal, omend i forskellig Grad. Det fra Rosenkaal reisolerede Patogen har paa Kødpepton-Agar gendannet typiske Kolonier af *Bacterium maculicolum* i Løbet af 2 Dage.

I en anden Forsøgsrække er som Smitemateriale anvendt en 2 Dage gammel Bouillon-Kultur, isoleret fra voksende Blomkaal. Hermed er i det fri opnaaet en kraftig Infektion af midaldrende Blade af Savoykaal, Hvidkaal og Knudekaal, samt af unge Rosenkaal-Blade; midaldrende Blade af Rødkaal og Blomkaal inficeredes svagt, af Grønkaal overhovedet ikke.

Grønkaal er ubetinget den mest modstandsdygtige af Kaalvarieteterne; den synes aldrig at angribes spontant.

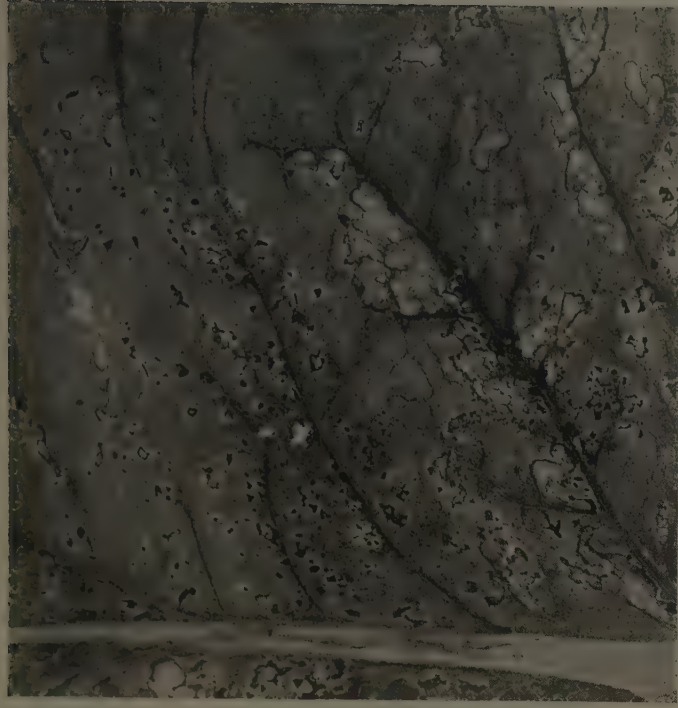
Sygdommen, der hidtil kun har været kendt fra U. S. A., og muligvis fra Australien, har med de danske Fund holdt sit Indtog i Europa — eller maaske rettere: er hermed blevet paavist i den Verdensdel, hvor den hører hjemme. Da nemlig en Række Kaalvarieteter kan inficeres med den samme Renkultur af Patogenet, ligger det nær at antage, at Kaalens vilde Stamart, *Brassica oleracea*, er den oprindelige Vært for *Bacterium maculicolum*, og at Sygdommen siden er gaaet over paa og har bredt sig med de dyrkede Kaalformer.



Blade af Blomkaal, spontant angrebne af Kaalens Pletbakteriose (*Bacterium maculicolum*).

Bladet t. v. er af Stor Dansk ($\frac{1}{4}$), t. h. af Erfurter Dværg ($\frac{3}{8}$). Lyngby, 11. 8. 22.

C. Ferdinandsen: *Bacterium maculicolum* paa europæisk Grund.



Detail af det paa Tavle I t. v. afbildede Blomkaalsblad, fotograferet i henholdsvis paaafaldende (t. v.) og gennemfaldende Lys (t. h.). Billedet giver et Parti af Bladets midterste Del, t. h. for Midtribben; det er fotograferet, efter at Bladet havde henligget ca. 1 Aar i Herbariet, men viser i gennemfaldende Lys stadig den gule Ringzone omkring Bakteriepletterne. $\frac{4}{5}$.

C. Ferdinandsen: Bacterium maculicolum paa europæisk Grund.



Blad af Bransviger-Hvidkaal, smittet med en Renkultur af *Bacterium maculicolum* fra Stor Dansk Blomkaal, 8 Dage efter Infektionen. $\frac{1}{2}$. Lyngby, 25. 7. 1923.

C. Ferdinandsen: *Bacterium maculicolum* paa europæisk Grund.

